

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS PALOTINA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO

Área: Anatomia Patológica

Aluno: Filipe Krasinski Cestari GRR20092367

Supervisor: Raimundo Alberto Tostes

Orientador: Noeme Sousa Rocha

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como parte das exigências para a conclusão
do curso de Graduação em Medicina
Veterinária na Universidade Federal do
Paraná.

PALOTINA – PR

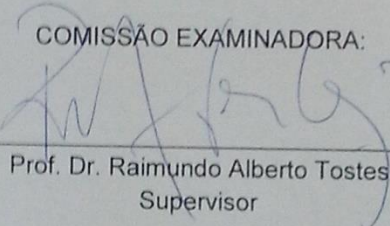
Dezembro de 2013

FILIPPE KRASINSKI CESTARI

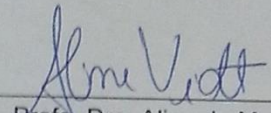
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO
Área: Patologia Veterinária

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como parte das exigências para a conclusão
do curso de graduação em medicina
veterinária da Universidade Federal do
Paraná.

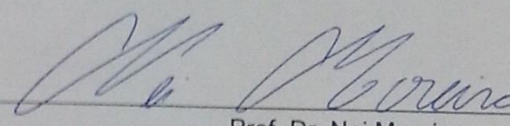
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Raimundo Alberto Tostes
Supervisor



Profa. Dra. Aline de Marco Viott
Membro da Banca



Prof. Dr. Nei Moreira
Membro da Banca

Palotina, 16 de dezembro de 2013

RESUMO

O estágio foi desenvolvido no Laboratório de Patologia e Medicina Legal Veterinária (LPMLV), localizado no campus de Rubião Júnior da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, localizada na cidade de Botucatu, estado de São Paulo, no período de agosto a novembro de 2013. As atividades realizadas concentraram-se nos três serviços principais do LPMLV: citopatologia, histopatologia e necropsias. O serviço de citopatologia envolve a atuação dos residentes da patologia animal no ambulatório de citopatologia do HV, onde são realizadas as coletas de material pela técnica de aspirado de agulha fina. O material coletado é imediatamente disposto em lâminas de vidro e corado em Panótico, Giemsa e Papanicolaou. A rotina da histopatologia baseia-se no recebimento de peças cirúrgicas, fixação das mesmas em formol a 10%, corte de amostras para colocação nos cassetes, inclusão em parafina, montagem e coloração das lâminas com hematoxilina e eosina (HE). As lâminas de cito e histopatologia são lidas pelos residentes, que confeccionam um laudo diagnóstico, sendo este posteriormente conferido pelo professor responsável antes da emissão do laudo ao requisitante. Os exames necroscópicos são realizados em sala específica no bloco da patologia pelo residente encarregado. Busca-se realizar a necropsia tão logo o cadáver esteja disponível, contudo, caso não seja possível a realização da necropsia imediata, os cadáveres são armazenados em câmara fria. O período passado no laboratório de patologia animal da UNESP Botucatu foi de grande valia para a melhora das habilidades laboratoriais, entendimento das técnicas usadas na rotina do laboratório e sistemática de diagnósticos histológicos, citológicos e macroscópicos, sendo muito importante para futura aplicação durante a vida profissional.

Palavras-Chave: citologia; histologia; necropsia; patologia; UNESP.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Prédio da patologia veterinária, visto a partir dos fundos.....	12
Figura 2. Arquivo de lâminas e blocos de parafina.....	12
Figura 3. Sala de necropsia. Ao fundo e à direita, câmara fria onde são armazenados os cadáveres.....	13
Figura 4. Sala de necropsia, Detalhe do local onde são realizadas as necropsias de grandes animais.	13
Figura 5. Sala de necropsia, detalhe das capelas onde são armazenados os materiais destinados à histopatologia.	14
Figura 6. Sala de aula.	14
Figura 7. Microscópio multiusuários.	15
Figura 8. Procedimento para coleta de material para citologia.....	17
Figura 9. Citoaspirador acoplado à seringa.....	17
Figura 10. Técnica de “squash”.....	18
Figura 11. Montagem do citofunil e lâmina de vidro para centrifugação de líquidos.	19
Figura 12. Procedimento para processamento de líquidos.	19
Figura 13. Correspondência entre diagnóstico clínico e citopatológico.....	21
Figura 14. Proporção de suspeitas clínicas condizentes com os diagnósticos definitivos	23
Figura 15. Distribuição dos procedimentos em relação à causa mortis.	26
Figura 16. Melanoma em cavidade oral de cão.....	31
Figura 17. Melanoma moderadamente melanótico em derme	31
Figura 18. Corte histológico da lesão de pele em MPD.	33
Figura 19. Figura 16. Êmbolo neoplásico em vaso sanguíneo da derme profunda.	34
Figura 20. Lesão recidivante em face lateral de MPD.....	34
Figura 21. Lesão recidivante em MPD..	35
Figura 22. Pulmões. Nota-se nódulos (setas) multifocais esbranquiçados	35
Figura 23. Detalhe de nódulo pulmonar..	36
Figura 24. Pulmão. Nódulo constituído por células epiteliais neoplásicas,.	37
Figura 25. Pulmão. Pérola de queratina evidente. Enfisema e congestão.	37
Figura 26. Rim. Área focal de provável metástase (círculo).	38

Figura 27. Histologia de CCE bem diferenciado. Cão.	40
Figura 28. Exemplo de CCE bem diferenciado em exame citopatológico. Cão	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Procedência e quantidade de cães e gatos encaminhados para citologia.....	21
Tabela 02 - Procedência e quantidade de material de cães e gatos remetido ao exame histopatológico.....	22
Tabela 03 - Local de origem de melanomas em cães.....	27

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Distribuição dos pacientes atendidos na citopatologia, por gênero e espécie.....	20
Quadro 2. Categorias de diagnósticos citopatológicos ao longo do estágio.....	20
Quadro 3. Gênero de caninos e felinos no serviço de histopatologia.....	22
Quadro 4 Distribuição dos exames histopatológicos quanto as categorias de diagnósticos.....	23
Quadro 5. Quantidade de solicitações de necropsia pelos serviços do HV.....	25
Quadro 06. Espécies necropsiadas.....	26
Quadro 07. Lesões macroscópicas dos casos de melanoma.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCE - Carcinoma de Células Escamosas

F - Fêmea

FMVZ - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

HE - Hematoxilina e Eosina

HV – hospital veterinário

LPAVET - Laboratório de Patologia Veterinária

LPMLV - Laboratório de Patologia e Medicina Legal Veterinária

M - Macho

MPD - Membro Pélvico Direito

SRD - Sem Raça Definida

TVT – Tumor Venéreo Transmissível

UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO	10
3	ROTINA DE EXAMES CITOLÓGICOS	15
3.1	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	18
4	ROTINA DE EXAMES HISTOPATOLÓGICOS	21
4.1	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	21
5	ROTINA DE EXAMES DE NECROPSIA	23
5.1	ANÁLISE DAS NECROPSIAS ACOMPANHADAS DURANTE O ESTÁGIO	24
6	REVISÃO DE LITERATURA	26
6.1	MELANOMA	26
6.1.1	Introdução	26
6.1.2	Macroscopia	27
6.1.3	Histologia	27
6.1.4	Crescimento e metástases	28
6.1.5	Sinais Clínicos	28
6.1.6	Tratamento e prognóstico	29
6.1.7	Casos Acompanhados	29
6.2	CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS COM METÁSTASE PULMONAR E RENAL EM BOVINO	31
6.2.1	Exame Histopatológico <i>Ante-Mortem</i>	31
6.2.2	Necropsia	31
6.2.3	Exame histopatológico post-mortem	35
6.2.4	Revisão de literatura	37
6.2.4.1	Introdução	37
6.2.4.2	Metástases	38
6.2.4.3	Aspectos citológicos	39
	REFERÊNCIAS	42
	Anexos	44

1 INTRODUÇÃO

O estágio curricular supervisionado obrigatório foi realizado no Laboratório de Patologia e Medicina Legal Veterinária (LPMLV) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), no distrito de Rubião Júnior, município de Botucatu, estado de São Paulo, no período de 19 de Agosto a 29 de Novembro de 2013, totalizando 714 horas de atividades, sob orientação da professora Doutora Noeme Sousa Rocha, professora adjunta de patologia veterinária da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho e supervisão do professor Doutor Raimundo Alberto Tostes, professor adjunto de patologia veterinária da Universidade Federal do Paraná (UFPR), setor Palotina.

Aperfeiçoar os conhecimentos teóricos e práticos aprendidos durante a graduação, adquirir experiência na área de patologia veterinária, acompanhar exames de cito e histopatologia visando aprender a realizar o exame macroscópico das lesões, bem como interpretar lâminas para a obtenção de um diagnóstico foram alguns dos objetivos. A estes soma-se a realização de necropsias e interpretação de lesões macroscópicas e auxiliar os residentes do serviço de patologia veterinária a desempenhar as atividades de rotina do laboratório de patologia.

2 DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO

Foram desenvolvidas atividades relativas a rotina do laboratório, envolvendo os principais serviços prestados ao hospital veterinário da UNESP e à comunidade externa, ou seja, emissão de laudos diagnósticos baseados em exames de necropsia, citopatologia e histopatologia.

O departamento de patologia animal da UNESP recebe cadáveres, peças cirúrgicas, e lâminas de citopatologia para processamento e emissão de laudos diagnósticos. Estes materiais são enviados pelo hospital veterinário (HV) da própria universidade ou por médicos veterinários autônomos que necessitem destes serviços. Necropsias também podem ser solicitadas por proprietários. O departamento é ainda responsável pelo ambulatório de citologia no hospital veterinário, onde são atendidos animais encaminhados por diversos setores do hospital para coleta de material citológico. Três médicos veterinários residentes são responsáveis pelo desempenho das funções do laboratório, revezando-se semanalmente entre as atividades de necropsia, histopatologia e citopatologia. Todas as atividades são supervisionadas por um dos professores da patologia veterinária, que também seguem uma escala semanal.

O LPMVL (fig. 01) conta com quatro técnicos para apoio de suas atividades. Dois técnicos têm a função de auxiliar em necropsias e aulas, organizando materiais necessários e assessorando os usuários do laboratório de necropsia, além de realizar a manutenção de equipamentos e instrumentais. Uma técnica tem a função de manter e organizar o arquivo de lâminas e blocos histológicos de parafina e outra é responsável pelo laboratório de rotina.

O LPMLV é subordinado ao departamento de clínica veterinária da FMVZ da UNESP, localizada no município de Botucatu, São Paulo. O laboratório conta com sala para arquivamento de lâminas (fig. 02), laboratórios de imunohistoquímica, ornitopatologia, pesquisa e de rotina, sala de necropsia (fig. 03 e 04), biorrepositório, sala de aula (fig. 06), cinco salas de professores, duas salas para pós-graduandos, uma para os residentes e duas de microscopia, sendo uma para o microscópio multiusuários (fig. 07) e outra para o microscópio de captura de imagens. O laboratório de rotina é onde são realizadas as colorações e montagem das lâminas de cito e

histopatologia confeccionadas durante a rotina e também nos projetos de pós-graduandos.

O LPMLV funciona das 8:00h às 12:00h e das 14:00h às 18:00h de segunda a sexta-feira e das 8:00h às 19:00h aos sábados, domingos e feriados, na forma de plantão.



Figura 1. Prédio da patologia veterinária, visto a partir dos fundos.



Figura 2. Arquivo de lâminas e blocos de parafina.



Figura 3. Sala de necropsia. Ao fundo e à direita, câmara fria onde são armazenados os cadáveres.



Figura 4. Sala de necropsia, Detalhe do local onde são realizadas as necropsias de grandes animais.



Figura 5. Sala de necropsia, detalhe das capelas onde são armazenados os materiais destinados a histopatologia.



Figura 6. Sala de aula.



Figura 7. Microscópio multiusuários.

As funções do LPMLV são desempenhadas pelos três médicos veterinários residentes, sendo dois R1 e uma R2, acompanhados por um professor responsável. Os residentes e o professor fazem uma escala semanal para desempenho das funções. O professor responsável verifica o diagnóstico e o laudo dos residentes, lendo as lâminas de cito e histopatologia e avaliando os achados de necropsias; o residente R2 tem liberdade para liberar laudos de citologia sem a verificação pelo professor, podendo solicitar quando julgar necessário.

Durante o período de estágio o LPMLV realizou 403 exames de citologia, 146 exames de histopatologia e 114 exames necroscópicos, dos quais foram acompanhados, respectivamente, 139, 58 e 45.

A seguir, serão relatados em detalhes os procedimentos de cada um dos serviços do LPMLV, a rotina de cada um deles e analisados alguns dos casos acompanhados ao longo do estágio.

3 ROTINA DE EXAMES CITOLÓGICOS

O Laboratório de Patologia e Medicina Legal Veterinária é responsável pela realização de exames citopatológicos, sendo este serviço prestado ao HV ou a profissionais externos a universidade, que enviam lâminas ao laboratório para diagnóstico.

No HV, o residente responsável pela semana de citologia atende os animais encaminhados diariamente, das 14:00h as 17:30h, no ambulatório de citologia ou no setor em que se encontra o paciente, caso seja mais conveniente.

Os pacientes são encaminhados dos diversos setores do HV, como clínica médica e clínica cirúrgica de grandes e pequenos animais, reprodução ou doenças infecciosas, por exemplo. As requisições de exames são recebidas por meio do sistema de informática interno do hospital, que reúne todos os setores e permite o acompanhamento do paciente ao longo dos exames e tratamento, reunindo todas as suas informações em um prontuário digital.

Via de regra, o paciente é trazido pelo proprietário, encaminhado pelo setor que fez o atendimento inicial. O procedimento padrão envolve breve anamnese, avaliação macroscópica e fotografia da(s) lesão(ões). Estas observações são anotadas no prontuário. Segue-se antissepsia do local da punção com álcool iodado. O material é coletado utilizando agulha (13 x 0.45mm, 30 x 0.7mm ou 30 x 0.8mm), por meio de capilaridade ou aspiração. O primeiro método consiste em introduzir a agulha na lesão e realizar movimentos repetidos, em forma de “leque”, atingindo diferentes pontos. O segundo método (aspiração) é indicado para lesões pouco esfoliativas ou de consistência firme. Após a introdução da agulha, retrai-se o êmbolo, formando vácuo, realiza-se o movimento como já descrito e solta-se o êmbolo antes de retirar a agulha da lesão (fig. 08). Para este método pode ser utilizado o citoaspirador (fig. 09), que garante maior agilidade para o procedimento. O material coletado é depositado em lâminas de vidro com auxílio de uma seringa para expelir o conteúdo da agulha. Por fim o material é espalhado deslizando outra lâmina sobre a primeira em técnica conhecida como “squash” (fig. 10). Por padrão, são confeccionadas no mínimo três lâminas de cada lesão, que são coradas em Panótico, Giemsa e Papanicolaou (anexo 2). A quantidade de lâminas pode variar dependendo da quantidade de material coletado.

Para verificação do sucesso da coleta, ainda no ambulatório e na presença do paciente e proprietário, uma lâmina é corada em Panótico e avaliada pelo residente. Caso a celularidade seja suficiente para diagnóstico o paciente é liberado; em caso negativo pode-se repetir a coleta com agulha de maior calibre e/ou aspirando com seringa de 10ml e citoaspirador.

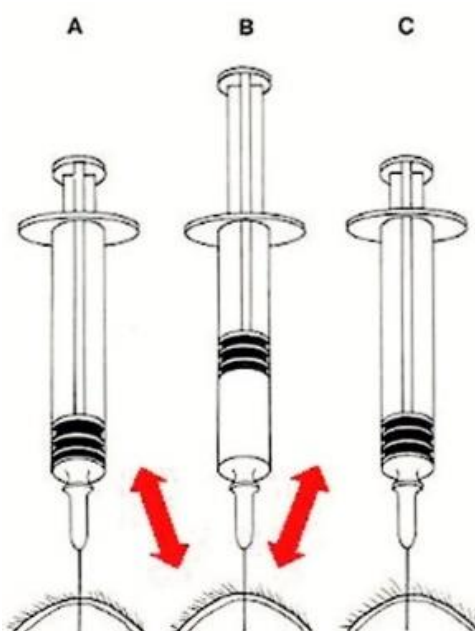


Figura 8. Procedimento para coleta de material para citologia. O método de capilaridade é semelhante, porém sem o uso de seringa. Adaptado de: <http://www.laboklin.de/images/page/News/laboklin_aktuell/lab_akt_1104_2.png>. Acesso em: 01/12/2013.

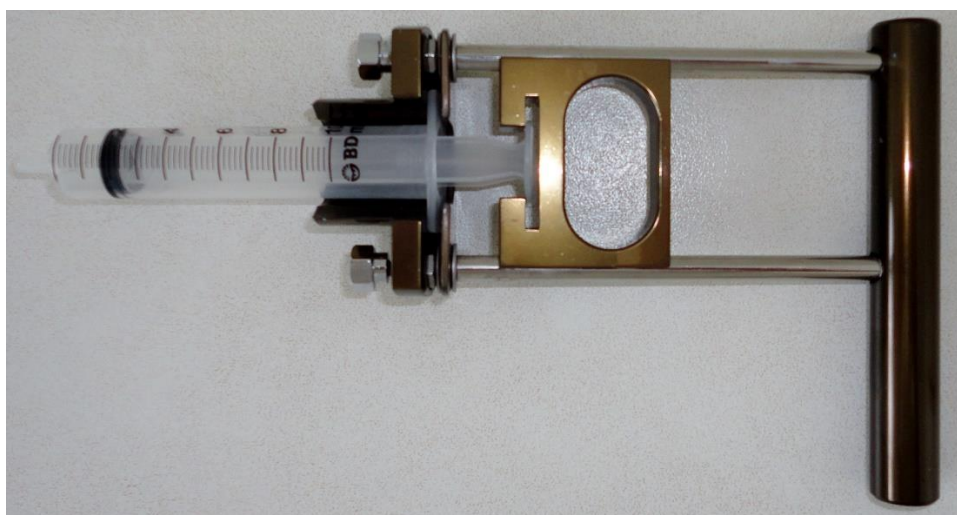


Figura 9. Citoaspirador acoplado à seringa.

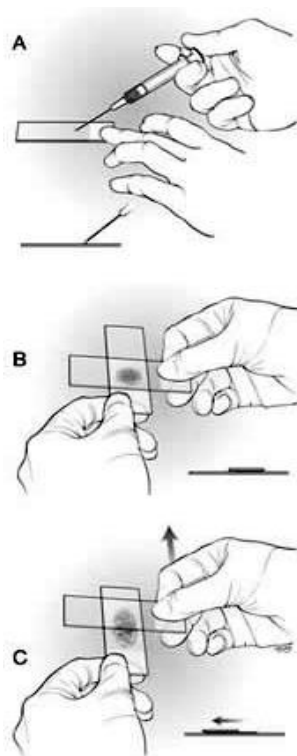


Figura 10. Técnica de “squash”. Fonte: < <https://ahdc.vet.cornell.edu/images/slidesteps.jpg>>. Acesso em 01/12/2013

Diariamente, no período da manhã, são realizadas as colorações de Giemsa e Papanicolaou nas lâminas confeccionadas no dia anterior.

Após coradas, as lâminas são lidas pelo residente responsável pela citologia naquela semana, que emite um laudo descrevendo a lâmina e contendo o diagnóstico. Este laudo, antes de ser liberado para o requisitante (médico veterinário responsável pelo caso no HV ou externo), é conferido pelo professor responsável na semana, que também lê as lâminas.

Também são recebidos para exame citológico, líquidos cavitários recebidos da clínica médica e cirúrgica. Os líquidos são avaliados quanto a cor, turbidez e odor e centrifugados, utilizando-se um citofunil acoplado à lâmina de vidro. (fig. 11 e 12) O material sedimentado sobre as lâminas é corado em panótico e giemsa.

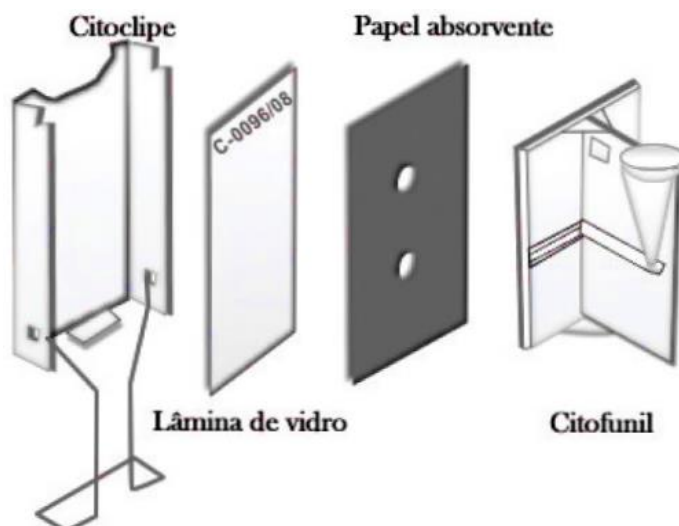


Figura 11. Montagem do citofunil e lâmina de vidro para centrifugação de líquidos. Fonte: CAPUTO, L, F, G; MOTA, E, M; GITIRANA, L, B (2010). Adaptado.

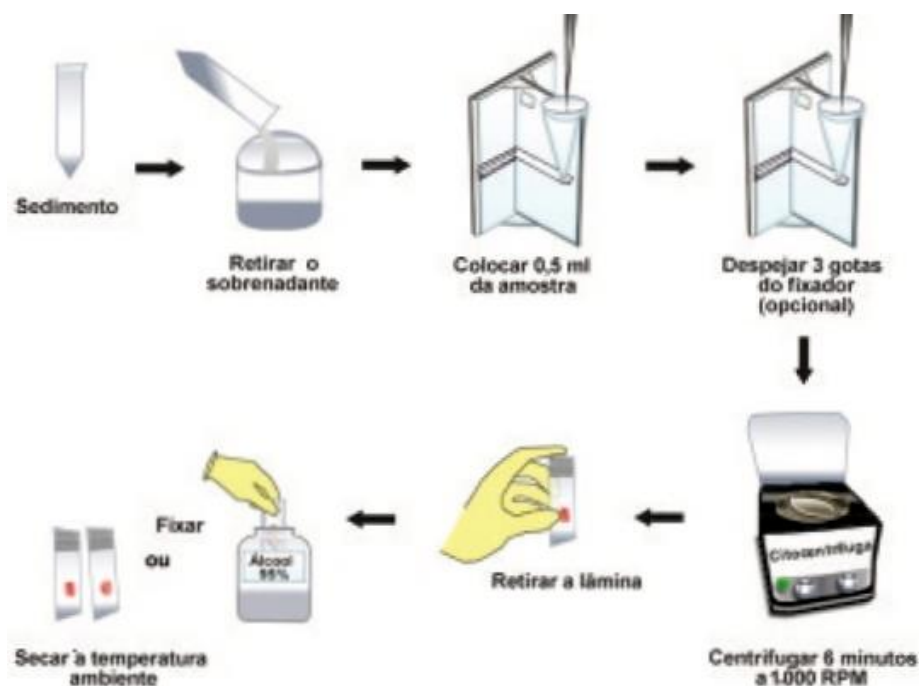


Figura 12. Procedimento para processamento de líquidos. Adaptado de: CAPUTO, L, F, G; MOTA, E, M; GITIRANA, L, B (2010).

3.1 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Ao longo do estágio foram realizados exames citológicos em 139 animais, durante sete semanas. Cães foram a espécie mais atendida (93%), seguido por felinos (4%). Outras espécies constituíram (3%). A distribuição dos pacientes segundo o gênero, teve o padrão descrito no quadro 01:

Quadro 1. Distribuição dos pacientes atendidos na citopatologia, por gênero e espécie

	Canina	Felina	Equina	Cervídea	Ovina
Macho	56	2	1	0	0
Fêmea	73	4	1	1	1

Também houve atendimentos de um ovino, dois equinos e um cervídeo, totalizando 139 animais atendidos.

Quanto a idade, as espécies mais frequentes (cães e gatos) apresentaram médias de idade, respectivamente, de 5 anos e 9 anos.

Os diagnósticos foram considerados individualmente em relação a cada lesão, portanto um mesmo animal pode gerar mais de um diagnóstico; estes apresentam o comportamento expresso no quadro a seguir.

Quadro 2. Categorias de diagnósticos citopatológicos ao longo do estágio.

Categorias diagnósticas	Quantidade	%*
Carcinomas	48	21
Inflamatórias	43	19
Não conclusivo (inclui linfonodo reativo)	40	18
Linfoma	20	9
Cistos ou sialocele	16	7
Hemangioma/hemangiossarcoma	12	5
Adenomas ou outros tumores epiteliais benignos	9	4
Neoplasia mesenquimal indefinida	9	4
Lipoma	8	4
Mastocitoma	6	3
TVT	5	2
Neoplasia de células redondas indefinida	4	2
Esteatonecrose	2	1
Leishmaniose	2	1
Metaplasia escamosa	1	0,4
Plasmocitoma	1	0,4
Total de diagnósticos	226	100

*Em relação ao total de diagnósticos.

Em 41% (93/226) dos exames, foi solicitado o exame histopatológico. As razões principais foram: confirmação ou detalhamento do diagnóstico (graduação e classificação de neoplasias, por exemplo), avaliação de margens cirúrgicas (quando o procedimento terapêutico envolve a excisão de tumores, principalmente em

neoplasias mamárias), elucidação em casos de diagnóstico inconclusivo ou em casos de lesões pouco esfoliativas que não permitiam coleta de material suficiente.

Em relação aos serviços que mais encaminharam pacientes à citopatologia, o padrão é descrito na tabela 01

Tabela 01. Procedência e quantidade de cães e gatos encaminhados para citologia.

Procedência	Espécies encaminhadas		%*
	Canina	Felina	
Cirurgia de pequenos animais	70	2	52
Clinica medica de pequenos animais	35	3	27
Dermatologia veterinária	7	1	6
Oftalmologia veterinária	4	0	3
Reprodução animal	4	0	3
Diagnostico de enfermidades infecciosas dos animais	4	0	3
Acupuntura	3	0	2
Neurologia veterinária	1	0	1
Anestesiologia	1	0	1
Total	129	6	98

*Em relação ao total de atendimentos

Considerando que a citologia ainda não é uma técnica amplamente utilizada no meio médico veterinário, é importante avaliar a importância da técnica como colaboradora do diagnóstico clínico. Para isso, foi idealizado um gráfico (fig. 13), que mostra a correspondência entre a(s) suspeita(s) clínica(s) e o resultado do exame citopatológico nos casos acompanhados ao longo de sete semanas.

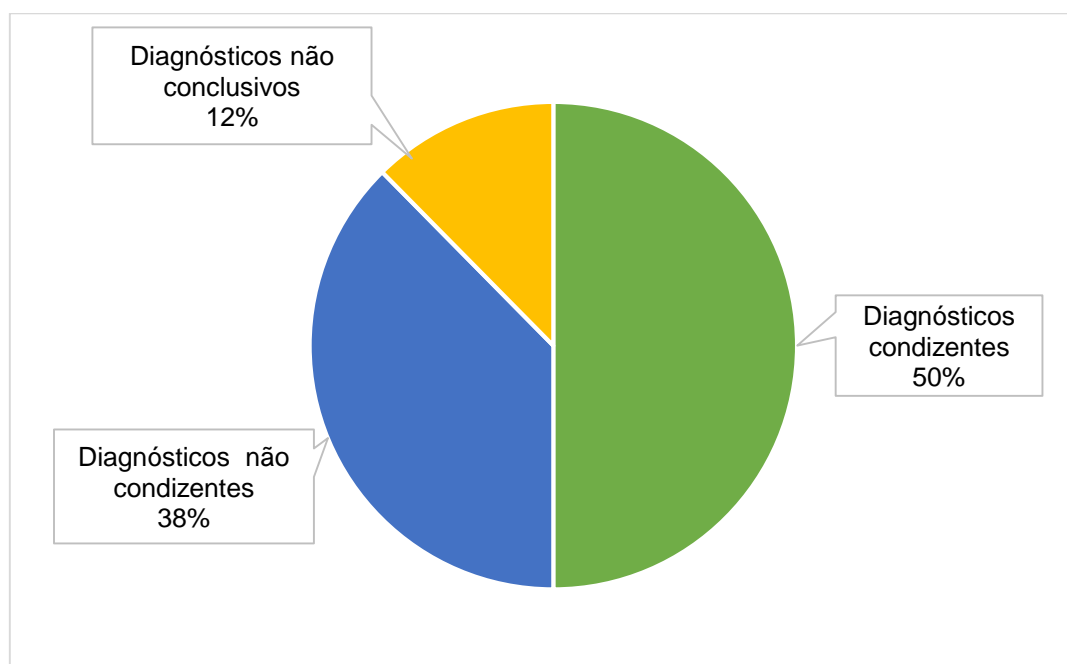


Figura 13. Correspondência entre diagnóstico clínico e citopatológico.

4 ROTINA DE EXAMES HISTOPATOLÓGICOS

Outra atribuição do laboratório de patologia é a realização de diagnósticos histopatológicos a partir de peças de biópsia que são enviadas pelos médicos veterinários do HV da UNESP ou externos.

As peças são fixadas em formol a 10% por no mínimo 24 horas antes de serem clivadas e incluídas em parafina. O médico veterinário residente descreve macroscopicamente o material, caso já esteja fixado, secciona os fragmentos de amostra e os acondiciona em cassetes para serem processados.

4.1 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Cães foram a espécie mais significativa em número de exames solicitados, com 48 casos, frente a 4 casos de felinos e 6 de outras espécies (equina, suína, caprina, primata, leporina e bovina), totalizando 58 solicitações de exame. A média de idade de cães e gatos foi de 10 anos; a distribuição destas duas espécies em relação ao gênero está expressa no quadro 03.

Quadro 3. Gênero de caninos e felinos no serviço de histopatologia.

	Cães	Gatos
Fêmea	30	3
Macho	18	1

A procedência e quantidade de materiais remetidos à histopatologia por cada um dos serviços ligados ao LPMLV durante o período acompanhado encontram-se na tabela a seguir:

Tabela 02: Procedência e quantidade de material de cães e gatos remetido ao exame histopatológico.

Procedência	Espécie de origem do material		%*
	Canina	Felina	
Cirurgia de pequenos animais	35	2	64
Oftalmologia veterinária	7	1	14
LAPAVET	3	0	5
Reprodução animal	2	0	3
Clínica médica de pequenos animais	0	1	2
Acupuntura veterinária	1	0	2
Total	48	4	90

* Em relação ao total de atendimentos

Os 58 exames solicitados resultaram em 13 classes de diagnósticos, apresentando a distribuição expressa no quadro 04. Como muitas das 58 requisições

continham mais de uma amostra, o número de diagnósticos supera o número de exames.

Quadro 4. Distribuição dos exames histopatológicos quanto as categorias de diagnósticos

Diagnóstico	Quantidade	%*
Neoplasias mesenquimais indefinidas	14	18
Mastocitoma	12	15
Inflamatórias	10	13
Lesões benignas de pele (não neoplásicas)	7	9
Adenomas ou outras neoplasias epiteliais benignas, incluindo tumor misto benigno de mama, adenoma de glândula sebácea, adenoma hepatóide e sertolioma	7	9
Carcinoma de células escamosas.	6	8
Carcinomas mamário	5	6
Outros carcinomas, inclui carcinoma de glândula sebácea	4	5
Hemangioma/hemangiossarcoma	4	5
Melanoma	4	5
Cistos	3	4
Tumor de bainha de nervo	2	3
Lipoma	1	1
Total	79	100

*Em relação ao total de diagnósticos.

A correspondência entre as suspeitas clínicas e o diagnóstico definitivo está expressa no gráfico a seguir (fig. 14). Foram consideradas condizentes as suspeitas que determinaram a natureza da lesão, como inflamatórias (independente da população leucocitária envolvida) ou neoplásicas que foram precisas ao ponto de indicar a linhagem celular comprometida (epiteliais, mesenquimais ou redondas).

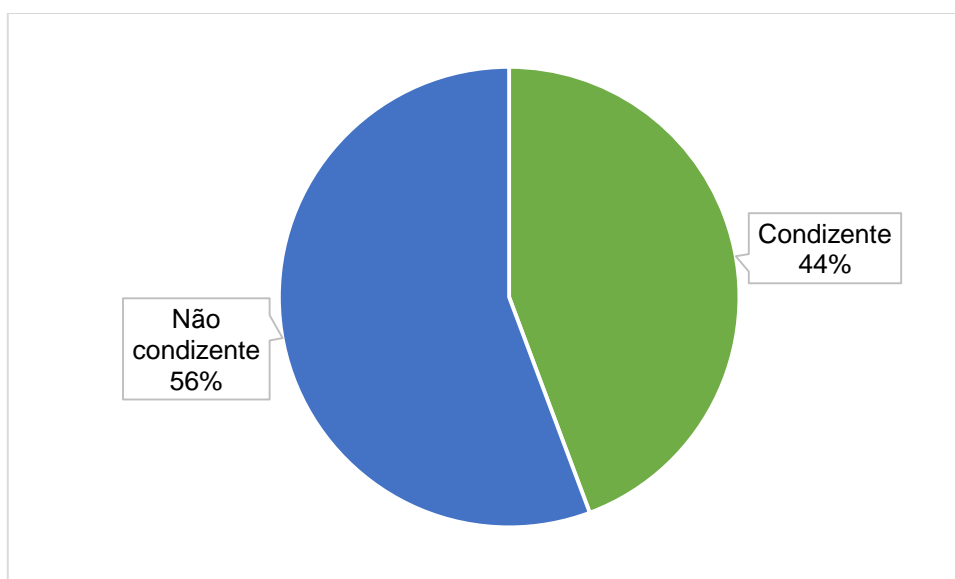


Figura 14. Proporção de suspeitas clínicas condizentes com os diagnósticos definitivos.

5 ROTINA DE EXAMES DE NECROPSIA

O LPMLV realiza exames necroscópicos em animais enviados pelo HV, por veterinários autônomos ou por proprietários. No caso do animal não ser enviado pelo HV, o exame é registrado como integrante do serviço LAPAVET (Laboratório de Patologia Veterinária), destinado a atender a comunidade externa à universidade. No ato do recebimento de um cadáver trazido pelo proprietário ou veterinário externo, é realizada anamnese visando principalmente obter informações sobre o estado de saúde recente do animal, contactantes, histórico de vacinações, medicações e outros tratamentos, alimentação, alterações de comportamento ou outros sinais.

Os cadáveres recebidos são armazenados em câmara fria entre 0 e 4°C e a necropsia é realizada o mais rapidamente possível, visando minimizar a influência dos processos *post mortem* no resultado da necropsia.

Todo o material necessário para a necropsia é posicionado sobre a mesa com antecedência, para não haver a necessidade do necropsista buscar o material no armário durante o procedimento; também não se admite que circule em torno da mesa, devendo realizar todo o exame sem mudar de posição em relação ao animal. Nas necropsias de pequenos animais adota-se também a prática de amarrar os membros do animal em decúbito dorsal, de forma a expor a região ventral.

As necropsias são fotografadas, com uma exposição geral do corpo do animal, seguida de fotografias de eventuais lesões externas, além de coloração de mucosas e identificações, como tatuagens e brincos no caso de animais de produção ou experimento. Ao se abrir as cavidades são fotografados os conjuntos de órgãos *in situ* e individualmente, conforme são avaliados, caso apresentem lesões importantes. Amostras de órgãos para exame histopatológico são colhidas caso não sejam identificadas lesões macroscópicas ou estas não sejam suficientes para determinação de um diagnóstico; exame citopatológico também pode ser realizado no momento da necropsia, para a obtenção de um diagnóstico preliminar.

Após o fim da necropsia os restos são descartados em uma carreta de metal com tampas, que fica em área externa, até ser removida para incineração do material, o que é feito uma vez ao dia ou mais, dependendo do volume descartado.

Assim como os outros serviços prestados pelo LPMLV, as necropsias também são realizadas por um médico veterinário residente a cada semana; da mesma forma, o professor supervisor também segue escala semanal.

Os laudos destinados ao HV são descritos no sistema de informática próprio, em formulário específico do paciente, seguindo um modelo que classifica os achados de necropsia em *causa mortis*, *exame externo*, *processo principal*, *processo secundário* e *outros achados*. Quando destinados à um solicitante externo (LAPAVET), os laudos seguem um modelo descritivo (anexo 04), que tem foco nos órgãos que apresentaram alterações, com área para descrição de exame externo, interno, microscópico e conclusão.

5.1 ANÁLISE DAS NECROPSIAS ACOMPANHADAS DURANTE O ESTÁGIO

Foram acompanhadas 45 necropsias. A grande maioria das solicitações (40) foram provenientes do HV e apenas 5 foram recebidas pelo serviço LAPAVET.

Quadro 5. Quantidade de solicitações de necropsia pelos serviços do HV.

Setor	Quantidade de animais remetidos
Clínica médica de grandes animais	13
Clínica médica de pequenos animais	9
LAPAVET	5
Reprodução animal	5
Animais silvestres	5
Cirurgia de grandes animais	3
Cirurgia de pequenos animais	3
Cardiologia veterinária	1
Neurologia veterinária	1
Total	45

Assim como nos serviços de citopatologia e histopatologia, houve um predomínio de cães dentre as espécies enviadas para necropsia.

Quadro 06. Espécies necropsiadas.

Espécie	Quantidade
Canina	12
Bovina	9
Ovina	6
Equina	5
Felina	5
Roedora (Hamster e <i>Coendou</i> sp)	2
Ovino	1
Caprina	1
Asinina	1
<i>Myrmecophaga tridactyla</i> (tamanduá-bandeira)	1
<i>Nasua nasua</i> (quati)	1
<i>Puma concolor</i> (puma)	1
Total	45

A acurácia das suspeitas clínicas foi de cerca de 55% (fig. 15), tendo em vista que em 25 casos ao menos uma das suspeitas foi condizente com os achados de necropsia e em outros 20 casos as suspeitas não foram confirmadas.

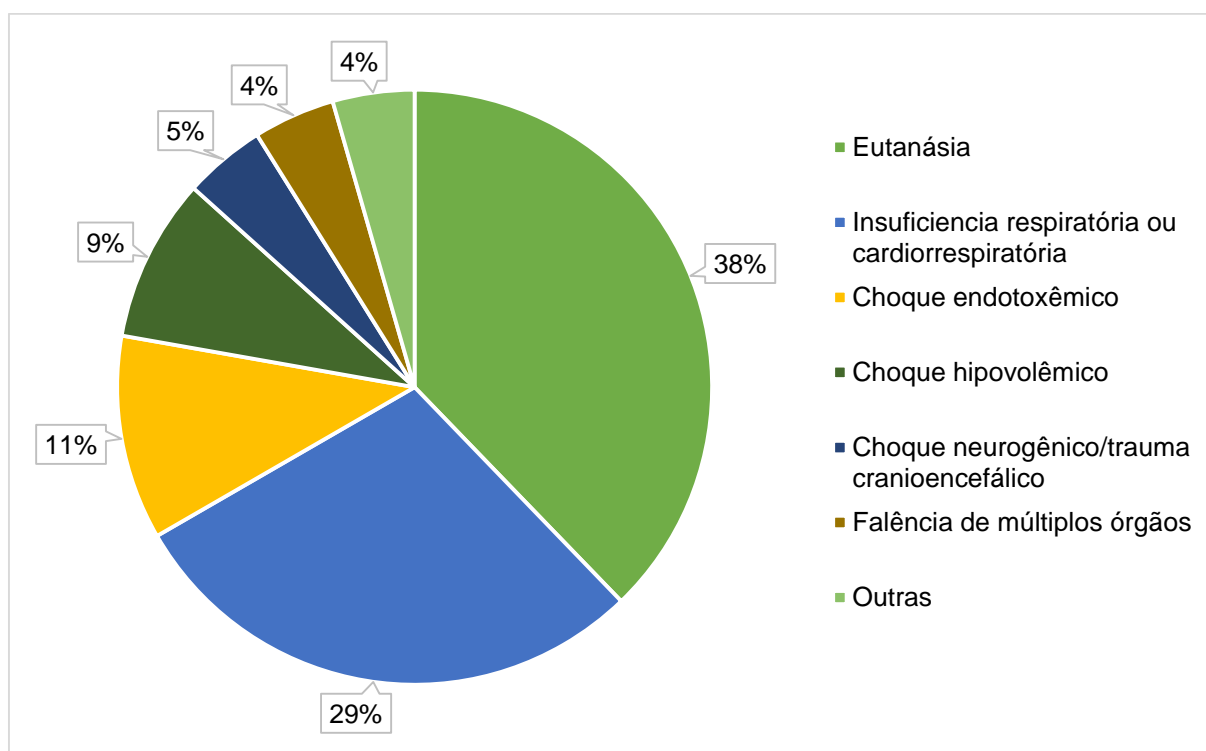


Figura 15. Distribuição dos procedimentos em relação à causa mortis.

6 REVISÃO DE LITERATURA

Para a discussão e revisão de literatura, foram selecionados os casos de melanomas e um caso de carcinoma de células escamosas metastático em um bovino.

6.1 MELANOMA

6.1.1 Introdução

O termo melanoma refere-se a variável maligna das neoplasias de melanócitos, das quais cães apresentam maior prevalência. O termo melanocitoma refere-se a variável benigna, restrita à pele. (GOLDSCHMIDT e HENDRICK, 2002, cap. 2 p. 78).

Os melanócitos são as células maduras produtoras de pigmento no estrato basal da epiderme. São células dendríticas entremeadas entre os queratinócitos basais da epiderme e do bulbo piloso, responsáveis pela produção de melanina, pigmento que é transportado aos queratinócitos por meio de melanossomos e tem função de proteger a pele de danos infligidos por raios ultra-violeta. Os núcleos dos melanócitos normais são pouco menores e mais hipercromáticos que dos queratinócitos e nucléolos não são visíveis; observa-se grânulos de melanina no citoplasma e nos processos dendríticos (GOLDSCHMIDT e SHOFR, 1998).

De acordo com Goldschmidt e Hendrick (2002, cap. 2, p. 78), em cães a faixa etária mais afetada é dos 9 aos 13 anos de idade, sendo que o risco é maior por volta dos 11 anos. Schnauzer, Setter Irlandês, Golden Retriever, Doberman Husky Siberiano e Poodle são as raças mais acometidas. Não há evidência de predisposição sexual para o desenvolvimento de melanoma. Na tabela 3 constam os sítios mais acometidos por melanomas em cães.

Tabela 03. Local de origem de melanomas em cães.

Cavidade oral	56%
Lábio	23%
Pele	11%
Dígito	8%
Outros	2%

Adaptado de GOLDSCHMIDT e SHOFR, 1998.

Em gatos os locais mais comuns de desenvolvimento de melanomas são lábios, nariz e dorso. Outras espécies são afetadas, porém a prevalência é muito

inferior a de cães. Trabalhos apontam que em gatos a prevalência de melanomas de cavidade oral seja de um a cada 243 neoplasias. Relatos em outras espécies são raros (HARGIS e GINN. 2009, cap. 17. P. 1255).

6.1.2 Macroscopia

Usualmente, no início dos sinais clínicos, encontra-se uma lesão nodular única, medindo 3 a 4 cm de diâmetro, não pedunculada, frequentemente ulcerada, imóvel e firme. Normalmente pigmentadas, mas a coloração pode ser disfarçada por tecido de granulação. As superfícies de corte podem ser enegrecidas ou com variações de tonalidade acastanhada até esbranquiçada (amelanótica) (GOLDSCHMIDT e SHOFER, 1998).

Estes tumores podem ser altamente pigmentados ou até mesmo não pigmentados, invadindo o tecido subcutâneo e fáscia muscular. Segundo Goldschmidt e Hendrick (2002, cap. 2, p. 82), a intensidade de pigmentação não é um indicador confiável da malignidade dos tumores melanocíticos.

6.1.3 Histologia

Os melanócitos neoplásicos arranjam-se em ninhos ou isoladamente ao longo da porção basal da epiderme ou em camadas mais superficiais. Quando na epiderme, os melanócitos têm núcleos grandes, nucléolos conspícuos e acentuadas mitoses podem ser percebidas. O componente dérmico é constituído por melanócitos anaplásicos e pleomórficos, cujo formato pode ser epitelióide ou fusiforme; o conteúdo de queratina é variável e o estroma é fibrovascular. Mitoses são comuns, geralmente acima de 3/10 campos de maior aumento (400X) e são o principal critério de malignidade. Focos de metaplasia cartilaginosa ou ósseas podem ser visualizados. A maior parte dos tumores melanóticos orais são lobulados e sustentados por um fino estroma colagenoso; invasão de submucosa e epitélio são comumente observadas. A presença de melanófagos em meio ao estroma ajuda no diagnóstico de neoplasias pouco pigmentadas (GOLDSCHMIDT e HENDRICK, 2002, cap. 2).

Goldschmidt e Shofer (1998) referem que é comum o crescimento do melanoma entre a camada basal da mucosa, para camadas mais superficiais e também invadindo submucosa, com destruição das papilas dérmicas. Muitos tumores podem não envolver a epiderme, apresentando crescimento apenas na derme, tecido

subcutâneo ou mesmo tecidos mais profundos, como adiposo e muscular. Ocorre também a destruição de anexos cutâneos e substituição do colágeno por células neoplásicas.

São descritos três arranjos celulares para os melanomas de cavidade oral. O tipo epitelial tem células poligonais bem agregadas, com abundante citoplasma eosinofílico pigmentado, distinto (bem delimitado), com um núcleo central e um ou mais nucléolos evidentes. O fusiforme têm citoplasma alongado e indistinto, núcleo ovalado ou alongado. O terceiro tipo é conhecido como misto e possui ambos os padrões em um mesmo tumor. Devido a variação morfológica dos melanócitos neoplásicos, os diagnósticos diferenciais devem ser principalmente carcinoma de células escamosas e fibrossarcoma (HARGIS, A. M e GINN, P. E; 2009, cap. 17, p. 1255).

Em cães o tipo celular observado na histopatologia não tem importância para determinação do prognóstico do paciente, entretanto em gatos a apresentação epitelióide tende a ser mais maligna e imprimir pior prognóstico.

6.1.4 Crescimento e metástases

Melanomas são neoplasias de crescimento acelerado e invadem localmente o tecido subcutâneo, além de apresentarem crescimento intraepidermal, exigindo atenção na avaliação de células neoplásicas em margens cirúrgicas. Metástases para linfonodos regionais e pulmões são frequentes (70% dos casos) e órgãos como baço, cérebro e coração também podem ser atingidos. Em 57% dos tumores gengivais o osso adjacente é invadido. Estas características de grande infiltração e capacidade metastática são responsáveis pelas frequentes recidivas após excisões de tumores melanocíticos.

6.1.5 Sinais Clínicos

Gengiva e lábios são os sítios mais comuns de desenvolvimento. O paciente portador de melanoma em cavidade oral apresenta ptialismo, disfagia, halitose, hemorragia, deslocamento ou perda de dentes (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002, cap. 8, p. 428). O tempo de evolução relatado costuma ser de 3 meses. Uma biopsia adequada do tumor deve ser profunda, incluindo o tecido abaixo da ulceração para evitar que a reação inflamatória local mascare a natureza do tumor.

6.1.6 Tratamento e prognóstico

O tratamento pode envolver cirurgia, criocirurgia, quimioterapia ou radioterapia, combinados ou isoladamente. O sucesso da excisão cirúrgica depende da remoção da massa antes da ocorrência de metástases. Goldschmidt e Hendrick (2002, cap 2. P. 83) relatam que as margens da lesão devem ser examinadas histologicamente para avaliação de infiltrações além da excisão, o que constitui a principal causa de recidivas. Linfonodos regionais também devem ser biopsiados em busca de metástases.

O tempo médio de sobrevida após a cirurgia é de três meses e a taxa de mortalidade no primeiro ano é de 84%, contudo, quando são selecionados animais sem acometimento de linfonodos regionais ou ossos e com radiografias de tórax sem evidência de metástase, o tempo de sobrevida eleva-se para oito meses. Terapias associadas à cirurgia, como quimioterapia, podem estender o tempo de sobrevivência em algumas semanas, mas não evitam recidivas e metástases.

6.1.7 Casos acompanhados

Dentre os casos acompanhados durante o estágio, quatro foram diagnosticados como melanoma, todos em exames histopatológicos. As suspeitas dos clínicos envolveram hemangioma/hemangiossarcoma, carcinoma de células escamosas, ou ativeram-se a classificar a lesão como um sarcoma, evidenciando a variabilidade de apresentações clínicas deste tumor. Os quatro casos foram definidos pelos patologistas como melanomas moderadamente melanóticos (fig.16 e 17) e todos ocorreram em cães. O quadro seguinte detalha as lesões macroscópicas de cada animal.

Quadro 07. Lesões macroscópicas dos casos de melanoma.

Paciente	Gênero	Idade (anos)	Raça	Macroscopia das lesões
1	M	15	SRD	Aumento de volume em região submandibular invadindo cavidade oral. Consistência fibroelástica e pigmentado.
2	F	18	SRD	Nódulo gengival fibroelástico, pigmentado e ulcerado.
3	M	11	Poodle	Nódulo gengival, de consistência macia, pigmentado
4	F	6	Pitt Bull	Nódulos de consistência firme em região abdominal, não aderidos e não ulcerados. Ao corte eram pigmentados.

Chama a atenção o fato de em três dos quatro casos ter havido envolvimento da cavidade oral, corroborando as afirmações de vários autores de que o melanoma é uma das neoplasia mais frequentes em cavidade oral de cães. Head, Else e Dubielzig, (2002, cap 8, P 427.) relatam frequência de melanomas em cães nos Estados Unidos de 12.7/100.000.

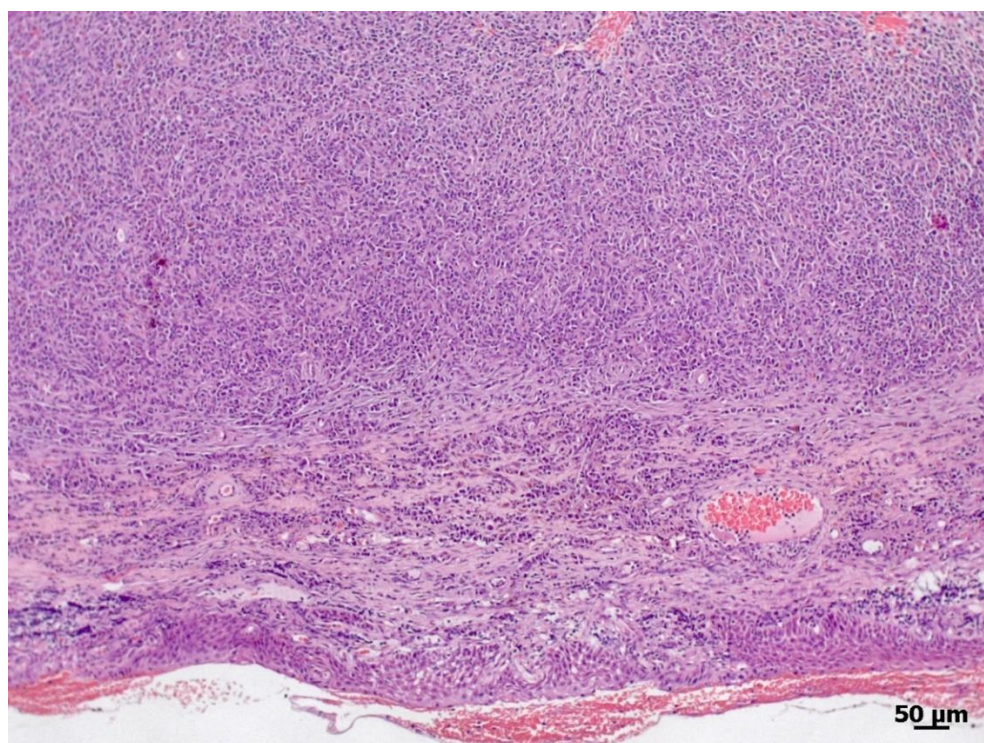


Figura 16. Melanoma em cavidade oral de cão. Destaque para intensa infiltração de células neoplásicas em derme e epiderme, substituindo o tecido normal. Coloração HE. Fonte: LPMLV.

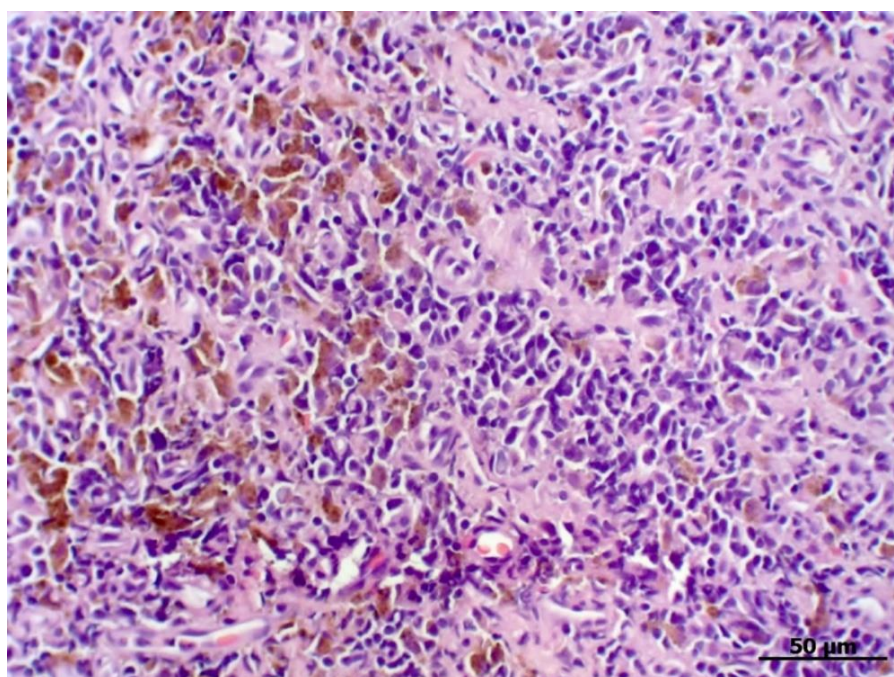


Figura 17. Melanoma moderadamente melanótico em derme. Coloração HE. Fonte: LPMLV.

6.2 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS COM METÁSTASE PULMONAR E RENAL EM BOVINO

Durante o estágio foi realizada necropsia de um bovino, fêmea, cuja idade relatada era de três meses, sem raça definida. O animal havia sido atendido na clínica médica de grandes animais no mês de maio de 2013 com a queixa de uma ferida de pele em face lateral de membro pélvico direito (MPD), próximo a articulação femorotibiopatelar, medindo cerca de 15 cm de diâmetro, não exsudativa e não pruriginosa. As suspeitas clínicas levantadas foram de inflamação crônica, hemangioma e carcinoma de células escamosas. Procedeu-se a excisão cirúrgica da lesão e o encaminhamento para exame histopatológico no LPMLV.

6.2.1 Exame Histopatológico *Ante-Mortem*

Foi recebida a peça cirúrgica da lesão no membro. Destacava-se a presença de epiderme, áreas multifocais alopecicas e úlceras na superfície. Ao corte, áreas multifocais acastanhadas, de consistência firme e áreas de necrose eram observadas. Os achados microscópicos são observados nas figuras 18 e 19. Na primeira, observa-se o corte histológico da lesão de pele em MPD, destacando-se neoplasia das células da epiderme infiltrando-se para derme, não encapsulada e ultrapassando os bordos de clivagem. As células neoplásicas se organizam em ilhas, formando pérolas córneas em alguns pontos (setas). O diagnóstico obtido a partir do exame histopatológico foi de carcinoma de células escamosas bem diferenciado.

O paciente retornou em setembro, portanto quatro meses após a cirurgia, devido a recidiva da lesão. Frente ao agravamento do quadro clínico o animal foi eutanasiado e encaminhado para necropsia no LPMLV.

6.2.2 Necropsia

Externamente destacava-se a lesão em face lateral de MPD, medindo 17cm de diâmetro, com superfície irregular, ulcerada, áreas necróticas e exsudato fibrinopurulento (fig. 20). Como observa-se na figura 21, profundamente a lesão continha nodulações com áreas multifocais a coalescentes amareladas, firmes, de centro necrótico e hemorrágico que rangiam ao corte. No exame interno os pulmões revelaram nódulos multifocais difusos medindo até 2,5cm de diâmetro (fig. 22 e 23).

Ao corte revelava as mesmas características da lesão de pele. Os rins apresentavam nódulos multifocais amarelados em região de transição corticomedular. Amostras da lesão de pele, rins e pulmão foram coletadas para avaliação histopatológica.

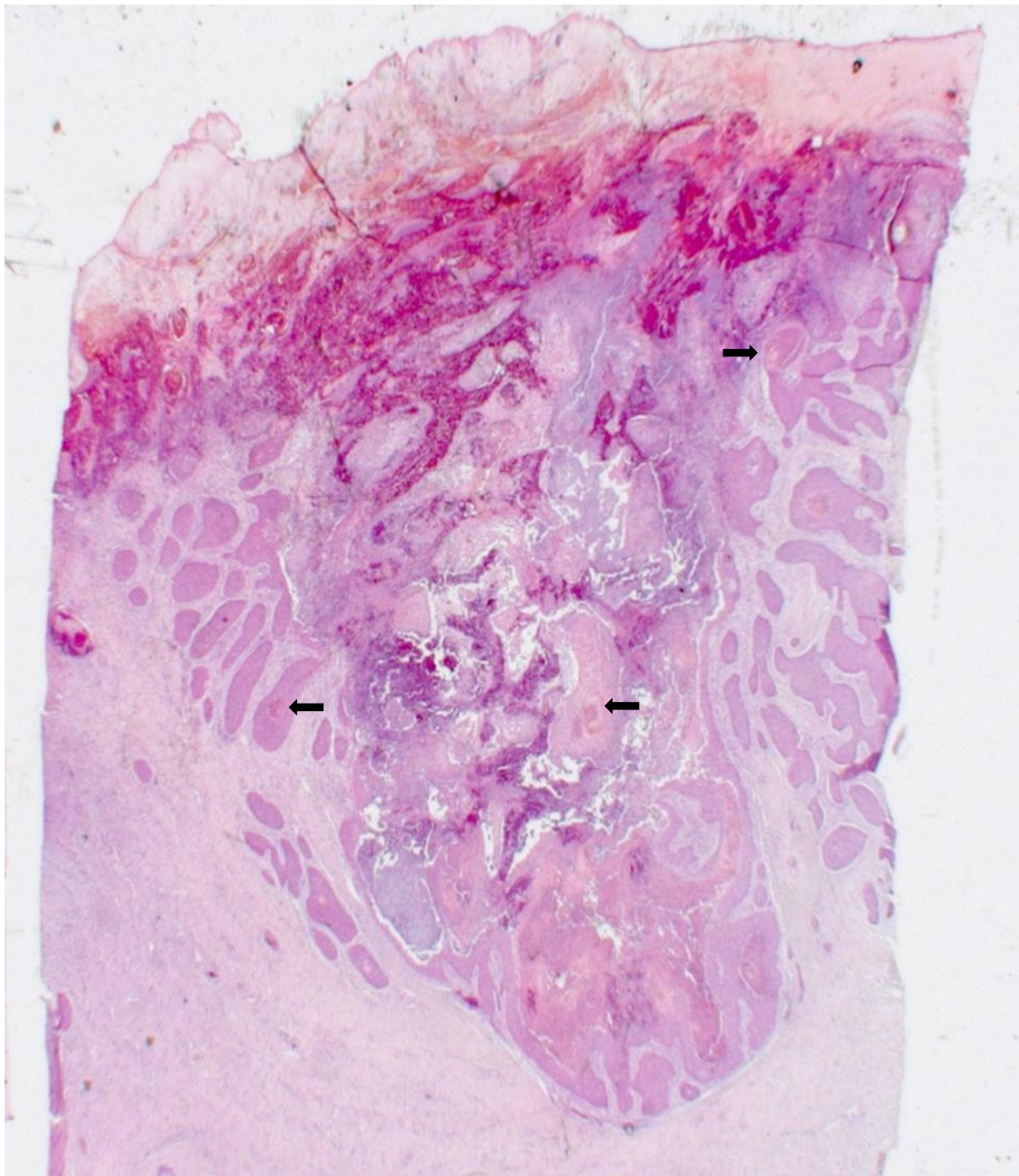


Figura 18. Corte histológico da lesão de pele em MPD. Coloração HE. Fonte: LPMLV.

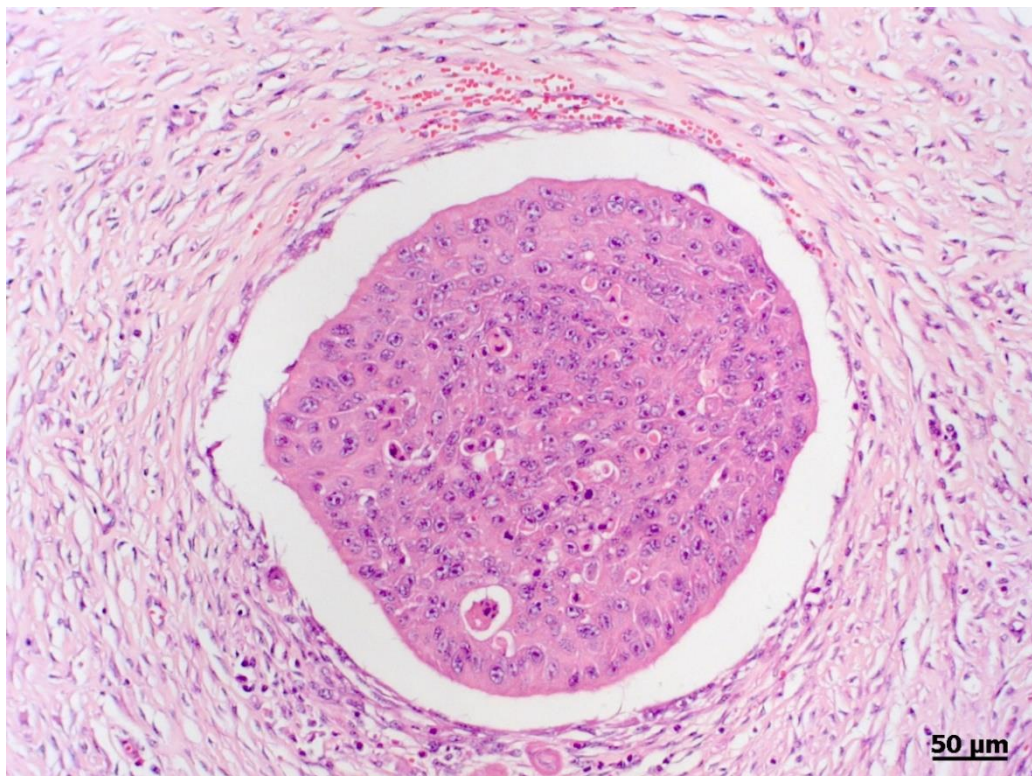


Figura 19. Figura 16. Êmbolo neoplásico em vaso sanguíneo da derme profunda. Observa-se células menos queratinizadas, grandes, com citoplasma eosinofílico. Múltiplos nucléolos evidentes. Anisocitose e anisocariose acentuadas. Coloração HE. Fonte: LPMLV.



Figura 20. Lesão recidivante em face lateral de MPD. Destaque para a superfície ulcerada, com áreas multifocais de necrose. Exsudato fibrinopurulento e miíases também foram observadas. Fonte: LPMLV.



Figura 21. Lesão recidivante em MPD. Ao corte observa-se nodulações com áreas amareladas centro necrótico e hemorrágico (seta). Fonte: LPMLV.

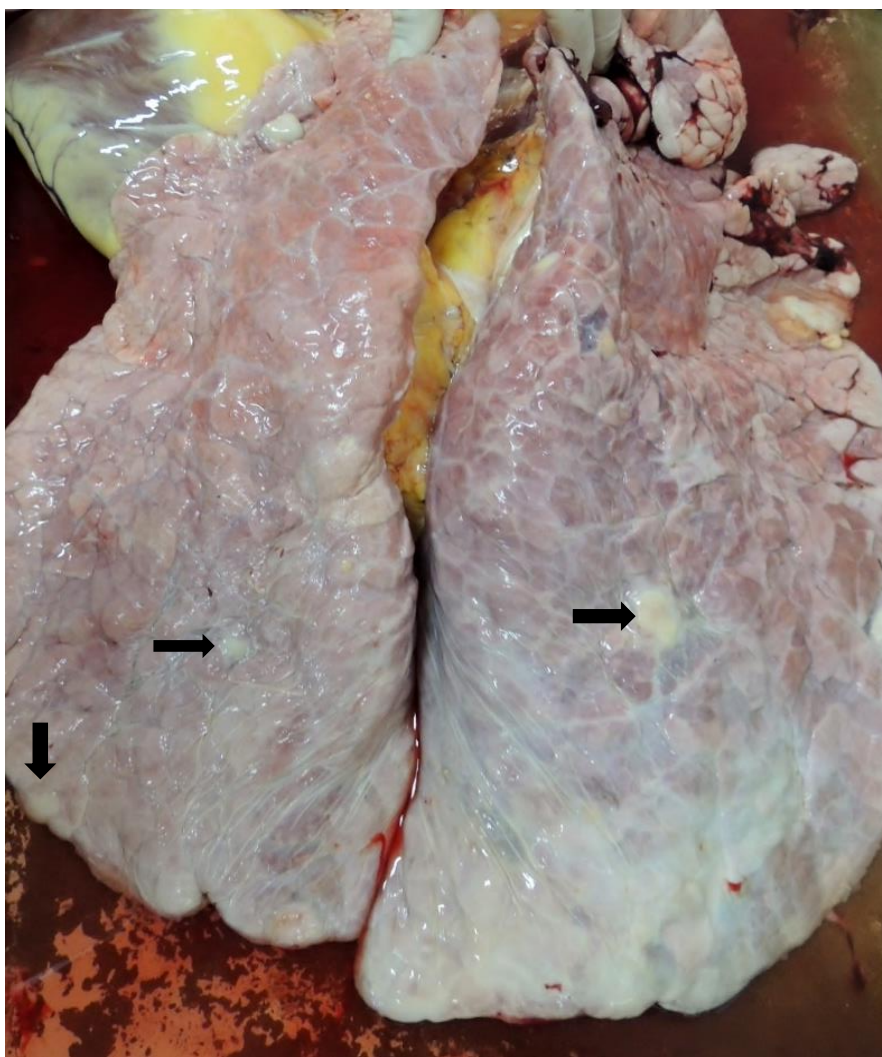


Figura 22. Pulmões. Nota-se nódulos (setas) multifocais esbranquiçados, de consistência firme, que ao corte eram firmes, amarelados e crepitantes. Fonte: LPMLV.



Figura 23. Detalhe de nódulo pulmonar. Fonte: LPMLV.

6.2.3 Exame histopatológico *post-mortem*

A lesão no MPD demonstrou características microscópicas semelhantes às observadas no primeiro exame histopatológico da lesão, ou seja, neoplasia de células epiteliais arranjadas em grupos e fileiras, constituindo pérolas córneas. As células possuíam citoplasma abundante, eosinofílico, de citoplasma indistinto, núcleo paracentral grande e ovalado com dois a três nucléolos proeminentes por célula, além de anisocitose e anisocariose acentuadas. Os nódulos pulmonares revelaram ser áreas de metástase da neoplasia cutânea; observou-se infiltração e proliferação de células epiteliais em grupos, formando estruturas circulares e queratinizadas (pérolas de queratina). Enfisema e congestão também foram observadas (fig. 24 e 25). Nos rins observou-se área focal de metástase, evidenciada por infiltração de células arranjadas em feixes, com tendência a formar estruturas circulares. As células possuíam as mesmas características observadas no pulmão. Degeneração tubular hidrópica (seta) e presença de conteúdo proteináceo eosinofílico na luz tubular também eram evidentes (fig. 26). Baseado em exame histopatológico prévio, nas lesões observadas na necropsia e nos exames histopatológicos, chegou-se à conclusão de carcinoma de células escamosas bem diferenciado, com metástase em pulmões e rim.

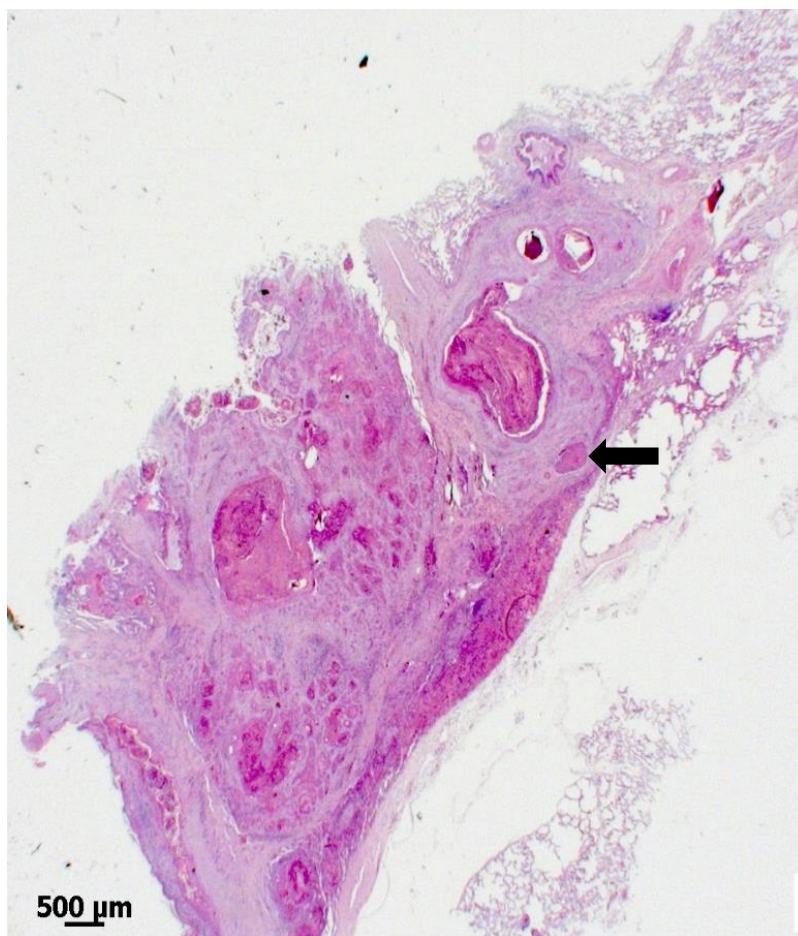


Figura 24. Pulmão. Nódulo constituído por células epiteliais neoplásicas, formando grupos, com a formação de pérolas córneas (seta). Coloração HE. Fonte: LPMLV.

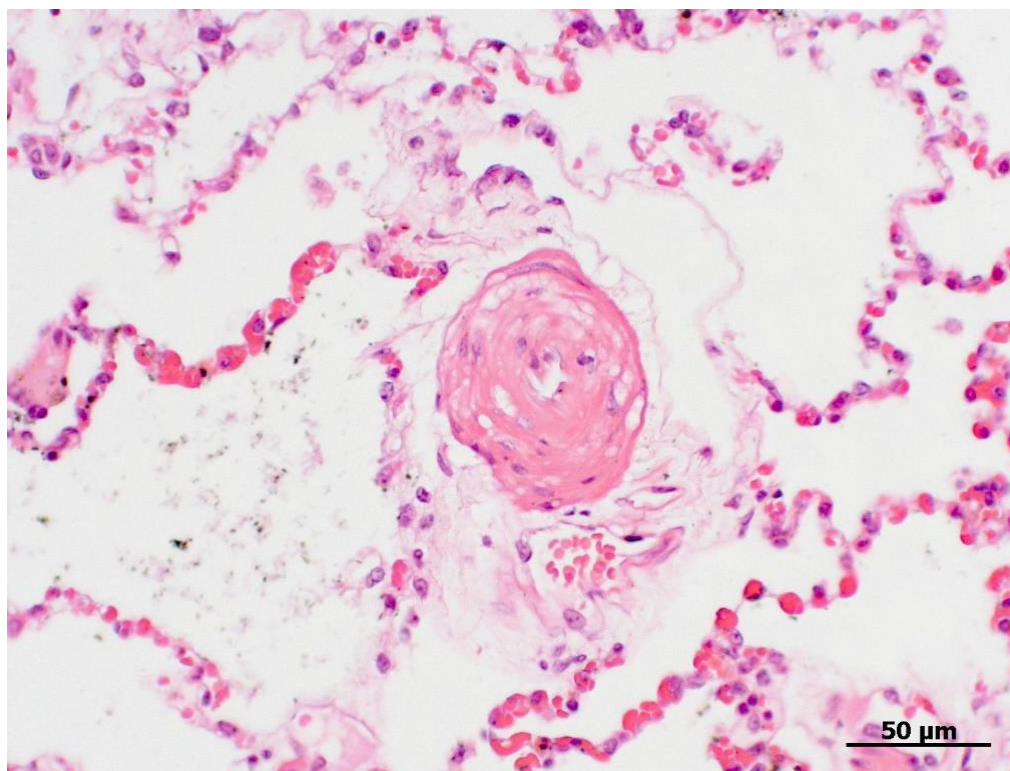


Figura 25. Pulmão. Pérola de queratina evidente. Enfisema e congestão. Coloração HE. Fonte: LPMLV.

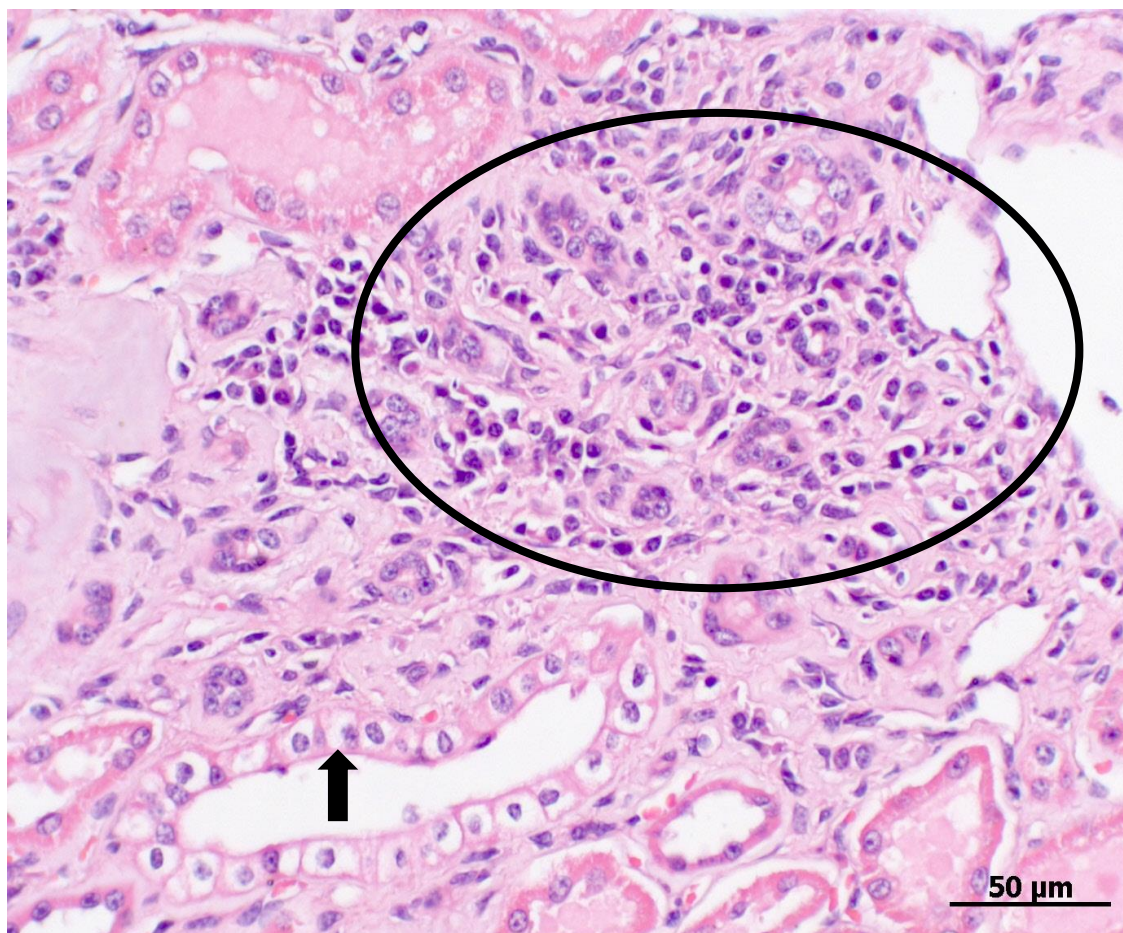


Figura 26. Rim. Área focal de provável metástase (círculo). Coloração HE. Fonte: LPMLV

6.2.4 Revisão de literatura

6.2.4.1 Introdução

O carcinoma de células escamosas (CCE) é a neoplasia maligna de queratinócitos. Acomete todas as espécies domésticas, sobretudo animais com pele despigmentada. A incidência aumenta com a idade e não há predileção sexual (PULLEY e STANNARD, 1990, cap 2, p. 56). Pode acometer qualquer região da pele, mas em cães, os locais mais acometidos são membros, escroto, lábios e epitélio da base da unha. Em equinos e bovinos as junções mucocutâneas são mais frequentemente envolvidas. Gatos podem ter lesões por CCE sobretudo na cabeça, orelhas, plano nasal, lábios e pálpebras. De acordo com Goldschmidt e Hendrick (2002, cap. 2, p. 51), os fatores predisponentes ao desenvolvimento desta neoplasia incluem exposição prolongada a luz ultravioleta, pele despigmentada ou com rarefação pilosa.

Goldschmidt e Hendrick (2002, cap. 2 p. 51), afirmam que inicialmente observa-se uma dermatose actínica como lesão pré-neoplásica, formando uma lesão eritematosa, edemaciada, crostosa, associada a hiperplasia da epiderme e ulceração. As úlceras geralmente apresentam infecção bacteriana secundária, levando ao desenvolvimento de exsudato purulento na superfície da massa. Microscopicamente a dermatose actínica é observada como hiperplasia da epiderme, hiperqueratose, paraqueratose, acantose e displasia de queratinócitos. Neste estágio a proliferação de queratinócitos ainda é limitada pela lâmina basal. Com a evolução da lesão, as células neoplásicas da epiderme tornam-se displásicas, desenvolvendo a capacidade de invadir os tecidos adjacentes por atravessarem a membrana basal (invasividade local). Organizam-se em forma de ilhas e cordões em diferentes níveis de diferenciação escamosa, podendo atingir a derme profunda, vasos linfáticos e subcutâneo. A quantidade de queratina é um indicativo do grau de diferenciação do tumor, já que tumores mais diferenciados apresentam maior queratinização, formando as pérolas córneas (fig. 27). Em tumores pouco diferenciados a presença de queratina é menos acentuada. Esta tem aparência de material eosinofílico, fibrilar, intracitoplasmático. As mitoses costumam ser evidentes e atípicas. Em decorrência da infecção bacteriana, é comum a observação de infiltrado neutrofílico em cortes histológicos de CCE. (KUSEWITT e RUSH, 2009, cap. 6, p. 266; GOLDSCHMIDT e HENDRICK, 2002, cap. 2, p. 52).

6.2.4.2 Metástases

Os carcinomas de células escamosas são localmente invasivos mas metástases são infrequentes e, quando ocorrem, atingem principalmente linfonodos regionais. O pulmão é o segundo órgão de predileção para metástases (PULLEY e STANNARD, 1990, cap. 2, p. 58). Goldschmidt e Hendrick (2002, cap. 2, p. 52) afirmam que a disseminação de células neoplásicas é mais comum em CCE menos diferenciado e/ou em situações em que a remoção cirúrgica foi tardia.

6.2.4.3 Aspectos citológicos:

Tyler, Cowell e Meinkoth (2008, cap. 5, p.100) relatam que a interpretação de lâminas citológicas de CCE é dificultada pela presença de inflamação, que tende a implicar em elevado grau de displasia das células epiteliais (RASKIN, 2010), por isso recomenda-se que seja realizada a aspiração da profundidade da lesão. O CCE é observado no exame citológico como clusters de células epiteliais associados à células mais maduras individualizadas. A morfologia celular pode envolver, dependendo do grau de diferenciação da neoplasia, desde células bem diferenciadas e de aparência normal (escamosas) até células imaturas, arredondadas, de escasso citoplasma azulado, pouco queratinizado, núcleo redondo e com múltiplos nucléolos de formato irregular evidentes. A presença de células com projeções citoplasmáticas conhecidas como cauda de girino são um forte indicativo das células de origem da neoplasia. Portanto, CCE's melhor diferenciados podem ser de diagnóstico difícil, pela ausência de critérios de malignidade, dos quais os mais comuns são anisocitose e anisocariose acentuadas, formato irregular e número de nucléolos elevado, variação na relação núcleo-citoplasma e citoplasma azulado. Vacuolização perinuclear, por vezes formando um halo claro em torno do núcleo, é relacionada como um forte indicativo de carcinoma (fig. 28).

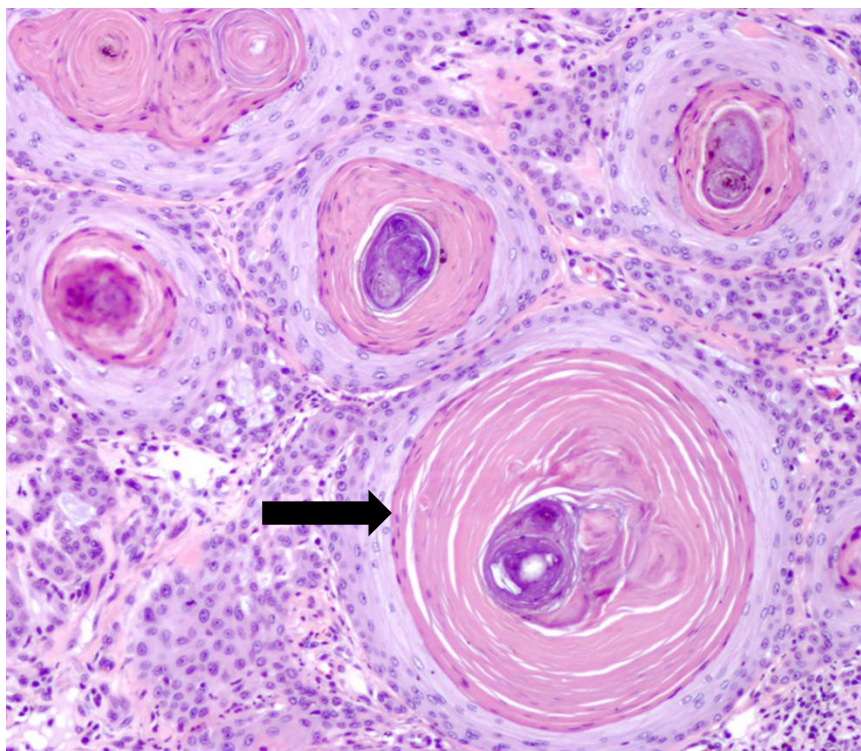


Figura 27. Histologia de CCE bem diferenciado. Cão. Destaque para as pérolas de queratina (seta). Adaptado de: <<http://www.ecvpath.org/september-2006/>>. Acesso em 02/12/2013.

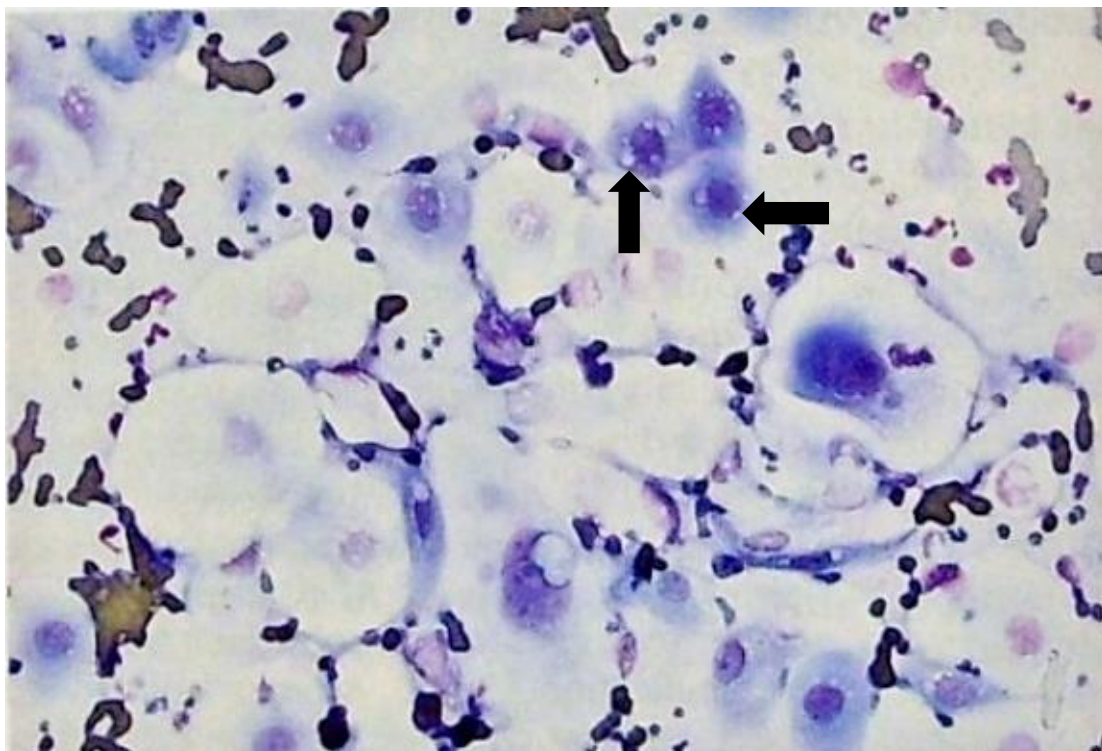


Figura 28. Exemplo de CCE bem diferenciado em exame citopatológico. Cão. Notar as células exibindo núcleos grandes, não picnóticos, com grandes nucléolos, além de vacuolização perinuclear (setas). Coloração de Wright. Adaptado de: TYLER, COWELL; MEINKOTH. (2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O período dedicado à realização do estágio obrigatório supervisionado no LPMLV da FMVZ UNESP em Botucatu foi extremamente importante para o aperfeiçoamento de habilidades técnicas em diagnóstico macroscópico, citológico e histológico, coleta e manipulação de amostras, consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo das disciplinas de patologia geral e especial, além de ter permitido o contato com uma rotina de procedimentos muito intensa, estrutura física e equipamentos de alta qualidade. Permitiu também ampliar a percepção acerca da realidade da patologia veterinária e de sua importância como um serviço de apoio à prática clínica.

REFERÊNCIAS

- CAPUTO, L. F. G; MOTA, E. M; GITIRANA, L. B. Técnicas citológicas. In: **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde- Volume 2**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio/Fundação Oswaldo Cruz, 2010. P. 197 – 199. Disponível em: <<http://www.epsjv.fiocruz.br/index.php?Area=Material&MNU=&Tipo=1&Num=166>>. Acesso em: 01 dez 2013.
- GOLDSCHMIDT, M. H; HENDRICK, M. J. Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. Ames: Iowa State Press, 2002. P. 51 – 52; 78 – 83.
- GOLDSCHMIDT, M. H; SHOFER, F. S. **Skin Tumors of the Dog and Cat**. Woburn: Butterworth-Heinemann, 1998.
- HARGIS, A. M; GINN, P. E. O Tegumento. In: McGAVIN, M. D; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. P. 310, 1255
- HEAD, K. W; ELSE, R. W; DUBIELZIG, R. R. Tumors of the Alimentary Tract. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. Ames: Iowa State Press, 2002. P. 427 – 430.
- KUSEWITT, D. F. RUSH, L. J. Neoplasia e Biologia Tumoral. In: McGAVIN, M. D; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. P. 266
- PULLEY, L. T; STANNARD, A. A. Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: MOULTON, J. E. **Tumors in Domestic Animals**. University of California Press, 1990. P. 56 – 58.
- RASKIN, R. E. Skin and Subcutaneous Tissues. In: RASKIN, R. E; MEYER, D. J. **Canine and Feline Cytology**. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2010. P. 46 – 48.
- SMEDLEY, R. C; SPANGLER, W. L; ESPLIN, D. G; KITCHELL, B. E; BERGMAN, B. J; HO, H. Y; BERGIN, I. L; KIUPEL, M. Prognostic Markers for Canine Melanocytic Neoplasms: A Comparative Review of the Literature and Goals for Future Investigation. **Veterinary Pathology**, Londres, n. 48, 2011, p. 54 - 72. Disponível em: <<http://vet.sagepub.com/content/48/1/54.short>>. Acesso em: 09 dez. 2013
- SMITH, S. H; GOLDSCHMIDT, M. H; MCMANUS, P. M. A Comparative Review of Melanocytic Neoplasms. **Veterinary Pathology**, Londres, n. 39, 2002, p. 651 – 678. Disponível em: <<http://vet.sagepub.com/content/39/6/651.short>>. Acesso em: 09 dez. 2013
- SPANGLER, W. L.; KASS, P. H. The Histologic and Epidemiologic Bases for Prognostic Considerations in Canine Melanocytic Neoplasia. **Veterinary Pathology**, Londres, n. 43, 2006, p. 136 – 149. Disponível em: <<http://vet.sagepub.com/content/43/2/136.short>>. Acesso em: 09 dez. 2013

SULAIMON, S. S; KITCHELL, B. E. The Biology of Melanocytes. **Veterinary Dermatology**, Oxford, n.14, mar. 2003. P. 57 – 65. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3164.2003.00327.x/pdf>>. Acesso em: 09 dez. 2013

TYLER, R. D; COWELL, R. L; MEINKOTH, J. H. Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In: Cowell, R. L. *et al* **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 2008. P. 100 – 101.

URMACHER, C. Normal Skin. In: STERNBERG, S. S. **Histology for Pathologists**. Nova York: Raven Press, 1992. P. 382 – 386.

ANEXOS

Anexo 01.....45

Anexo 02.....46

Anexo 03.....47

Anexo 04.....48

Anexo 05.....49

ANEXO 1

Técnica de processamento dos tecidos:

Desidratação do tecido em uma bateria de álcoois etílico (70%, 80%, 90% e 100%) para permitir infiltração da parafina.

Diafanização: é a infiltração de um solvente da parafina nos tecidos, que tem a função de retirar água, álcool e gordura para permitir a impregnação da peça. Utiliza-se Xilol, mantendo o tecido em contato por 15 a 30 minutos.

Impregnação: elimina o xilol da amostra e preenche os espaços antes ocupados por gordura e água, além de conferir consistência firme ao tecido, para que possa ser cortado no micrótomo. Aplica-se a parafina a temperatura de cerca de 60°C.

Inclusão: realizada também com parafina, produz blocos que podem ser guardados indefinidamente e facilitam o corte dos tecidos.

Corte em micrótomo e montagem das lâminas, seguidas por coloração.

O método de coloração mais empregado na rotina é o da Hematoxilina e Eosina (HE). Utiliza-se o seguinte método:

Hematoxilina de Mayer, por 15 minutos; em seguida lavar em água corrente por 20 minutos.

Dois minutos em álcool 70%

Corar com Eosina-Floxina por 2 minutos.

Desidratação em dois álcoois 95% e dois absolutos, removendo o excesso de eosina.

Clarificação em dois xilóis, dois minutos cada.

Montagem com lamínulas usando Entellan.

Peças ósseas são deixadas em solução descalcificadora ácido nítrico 10% por 24 horas ou até que se tornem friáveis o suficiente para o processamento.

ANEXO 2

Técnicas de coloração:

Panótico: Procede-se a fixação do material na lamina por cerca de 30 segundos (20 mergulhos), seguindo para os corantes I e II, também por cerca de 30 segundos ou 20 mergulhos em cada. Após lavar em água corrente e secar, a lâmina está pronta para leitura.

Papanicolaou: As lâminas destinadas ao corante Papanicolaou devem ser mergulhadas em álcool 95% imediatamente após a deposição do material, para fixação. As lâminas destinadas ao corante Giemsa são deixadas para secar e depois fixadas em metanol.

O corante Giemsa é diluído em água, na proporção de 1ml de corante para 4ml de água e deixado sobre o material por 35 minutos antes de lavar em água corrente. A coloração de Papanicolaou é mais trabalhosa, incluindo os seguintes passos:

1. Hidratação da amostra, com mergulhos em álcool 95°, 70° e 50° e lavagem em água corrente.
2. Coloração nuclear: mergulho em hematoxilina por 10 minutos; lavagem em água corrente por 5 minutos. Dez mergulhos em álcool 50°, 70°, 80° e 95°.
3. Coloração citoplasmática: corante Orange-G por 2 minutos, seguido por lavagem em água corrente. Em seguida, três álcoois absolutos (10 mergulhos em cada) e três minutos em corante EA-36. Limpeza com água.
4. Desidratação e diafanização: Dez mergulhos em três álcoois absolutos. Secagem das lâminas ao ar. Sequência de mergulhos em xilol (três).
5. Montagem de lamínulas sobre o material para melhor conservar a coloração, evitando-se a formação de bolhas de ar.

ANEXO 3

Modelo de laudo LAPAVET para exames citológicos.

Resultado de Citologia

RG: 1234

LC: 01/12

Requisitante:

Nome do animal: Bethoven

Espécie: canina **Raça:** Lhasa Apso **Sexo:** macho **Idade:** 7 anos

Material: recebidas 2 (duas) lâminas fixadas em álcool. Estas foram coradas pelo método de Giemsa.

Descrição: a análise detalhada da totalidade das lâminas citológicas revelou alta celularidade composta predominantemente por células escamosas anucleadas, com presença de bactérias intra e extra celulares, além de muco e células degeneradas.

Conclusão: amostra inconclusiva. Sugere-se biópsia incisional.

Resultado entregue em: 24/02/2012

Patologista responsável: Dr^a.

CRMV-SP:1234

ANEXO 4

Modelo de laudo LAPAVET para exames histológicos.

Resultado de Histologia

RG: 1234

LH: 01/13

Requisitante:

Nome do Animal: Spike

Espécie: Canino **Raça:** Shih tzu

Sexo: Macho

Idade: 4 meses

Material enviado para exame: Refere envio de fígado, estômago, coração, rim, pulmão, intestinos, cérebro e cerebelo

Fixador: Uso de formol a 10%

Colorações empregadas: H&E

Histórico:

Macroscopia: recebido fragmentos de pulmão, fígado, rim, linfonodo mesentérico, intestinos, cérebro e cerebelo.

Microscopia:

Fígado: Hepatócitos com degeneração macrovacuolar difusa moderada a acentuada. Congestão vascular moderada por vezes predominante em espaço porta.

Intestino delgado: perda do epitélio das vilosidades. Lâmina própria infiltrada por linfócitos e plasmócitos em quantidade acentuada, associada a áreas multifocais hemorrágicas Hiperplasia das placas de Peyer, congestão vascular na muscular da mucosa.

Conclusão: compatível com parvovirose canina

Patologista responsável: Dr^a.

CRMV-SP:1234

ANEXO 5

Modelo de laudo LAPAVET para exames necroscópicos.

Resultado de Necropsia

RG: 1234

LN: 01/12

Requisitante:

Espécie: Equino

Raça: Apaloosa

Sexo: Fêmea

Idade: 10

meses

Nome do animal: Star

Óbito em: 15/12/12

Necropsia: 16/12/12

Histórico:

Refere que o animal apresentava bom estado geral, porém no dia 12/12/12 o animal apresentava inchaço na região da articulação metatarsiana bilateral. No dia 14/12/12 o animal apresentou decúbito, espasmos musculares, urina de coloração acastanhada, fraqueza principalmente dos membros posteriores, desde então não se levantou. Foi medicado com Banamine. Nega exercício intenso, o animal fica maior parte do tempo em baia, somente no pasto no período de 1 a 2 horas por dia. Há outros 20 animais na mesma propriedade, todos em bom estado geral. O animal veio a óbito durante o transporte para vinda ao Hospital Veterinário (UNESP/ campus Botucatu). Refere ter observado feno com fungo. Suspeitas clínicas: rabdomiólise, intoxicação.

Exame Externo:

O animal apresentava mucosas aparentes avermelhadas. Apresentava bom estado nutricional.

Exame Interno:

Análise *in situ* da cavidade torácica revelou discreto líquido avermelhado. O terço final da traqueia e brônquios pulmonares continham líquido espumoso esbranquiçado em quantidade moderada. As superfícies externa e interna do pulmão possuíam áreas avermelhadas, principalmente os lobos pulmonares esquerdo (decúbito) e ao corte, fluía discreto conteúdo sanguinolento.

O coração continha miocárdio com áreas multifocais a coalescentes pálidas.

O fígado continha bordos moderadamente abaulados, além de áreas heterogêneas amareladas na superfície externa e se aprofundavam ao corte.

Rins com discreta aderência capsular e intensamente avermelhados.

A medula em região sacro coccígea estava avermelhada.

A musculatura esquelética em região lombar dorsal estendendo-se para fêmur bilateral e região escapular bilateral apresentava áreas multifocais a coalescentes pálidas.

- Nota: Foi observado sinais de autólise nos órgãos, como por exemplo, alteração da coloração (impregnação por hemoglobina) nas serosas intestinais, rins, mucosa traqueal, além de amolecimento de órgãos.
- Coletado material para exame de raiva e toxicológico caso necessário.

Exame microscópico:

Musculatura esquelética: infiltrado linfoplasmocitário multifocal discreto, por vezes com áreas de necrose multifocal.

Rim: congestão vascular. Presença de dilatações císticas em região medular

Pulmão: áreas multifocais a coalescentes de edema intra-alveolar além de áreas enfisematosas.

Encéfalo: hemorragia subdural e infiltrado linfoplasmocitário discreto. Observa-se manguitos perivasculares e satelitose moderada.

Medula: cervical: neurônio, citoplasma com pontos biofílicos. Autólise e degeneração.

Conclusão: Diante do exposto, conclui-se como *causa mortis* a insuficiência respiratória (edema pulmonar agudo). O processo principal é uma encefalite mononuclear discreta de etiologia inespecífica.

Patologista responsável: Dr^a.

CRMV-SP:1234